

10 / 510738  
PCT/JP03/04247

日 本 国 特 許 庁

JAPAN PATENT OFFICE

03.04.03

12 OCT 2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2002年 4月 9日

出 願 番 号

Application Number:

特願2002-106300

[ST.10/C]:

[JP2002-106300]

出 願 人

Applicant(s):

大塚製薬株式会社

REC'D 05 JUN 2003

WIPO

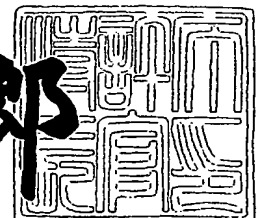
PCT

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 5月13日

特 許 庁 長 官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特2003-3035868

【書類名】 特許願  
 【整理番号】 49501JP  
 【提出日】 平成14年 4月 9日  
 【あて先】 特許庁長官殿  
 【国際特許分類】 A61K 7/00  
 C07H 19/00  
 C07H 21/00

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市山科区御陵四丁野町 3・1 - 2 クレイドル 4  
 0 7

【氏名】 河村 光章

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市左京区北白川上別当町 2 1 - 4

【氏名】 篠原 茂生

【特許出願人】

【識別番号】 000206956

【氏名又は名称】 大塚製薬株式会社

【代理人】

【識別番号】 100065215

【弁理士】

【氏名又は名称】 三枝 英二

【電話番号】 06-6203-0941

【選任した代理人】

【識別番号】 100076510

【弁理士】

【氏名又は名称】 掛樋 悠路

【選任した代理人】

【識別番号】 100086427

【弁理士】

【氏名又は名称】 小原 健志

【選任した代理人】

【識別番号】 100090066

【弁理士】

【氏名又は名称】 中川 博司

【選任した代理人】

【識別番号】 100094101

【弁理士】

【氏名又は名称】 館 泰光

【選任した代理人】

【識別番号】 100099988

【弁理士】

【氏名又は名称】 斎藤 健治

【選任した代理人】

【識別番号】 100105821

【弁理士】

【氏名又は名称】 藤井 淳

【選任した代理人】

【識別番号】 100099911

【弁理士】

【氏名又は名称】 関 仁士

【選任した代理人】

【識別番号】 100108084

【弁理士】

【氏名又は名称】 中野 睦子

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 001616

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9708032

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 細胞増殖用組成物

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 プリン系核酸関連物質とピリミジン系核酸関連物質を含有することを特徴とする細胞増殖用組成物。

【請求項 2】 プリン系核酸関連物質がアデニン系核酸関連物質よりなる群から選択される少なくとも 1 種であり、ピリミジン系核酸関連物質がウラシル系核酸関連物質よりなる群から選択される少なくとも 1 種である請求項 1 に記載の細胞増殖用組成物。

【請求項 3】 プリン系核酸関連物質がアデノシンーリン酸またはその塩であり、ピリミジン系核酸関連物質がウリジンーリン酸またはその塩である請求項 1 または 2 に記載の細胞増殖用組成物。

【請求項 4】 プリン系核酸関連物質を総量で少なくとも 0.01 重量%の割合で含有する請求項 1 乃至 3 のいずれかに記載の細胞増殖用組成物。

【請求項 5】 プリン系核酸関連物質を総量で 1～10 重量%の割合で含有する請求項 1 乃至 3 のいずれかに記載の細胞増殖用組成物。

【請求項 6】 組成物中のプリン系核酸関連物質 1 重量部に対してピリミジン系核酸関連物質を総量で 0.01～100 重量部の割合で含有する請求項 1 乃至 5 のいずれかに記載の細胞増殖用組成物。

【請求項 7】 抗老化、保湿、抗アクネ、美白、抗たるみ、抗くすみ、抗シワ、育毛、抗フケ、美爪、及び創傷治療よりなる群から選択されるいずれかの用途に使用されるものである、請求項 1 乃至 6 のいずれかに記載の細胞増殖用組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、プリン系核酸関連物質を有効成分として含む細胞増殖用組成物に関する。また本発明は、プリン系核酸関連物質が有する細胞増殖作用を増強する方法に関する。

【0002】

## 【従来の技術】

従来より、アデノシン、アデノシンリン酸及びその塩等のプリン系核酸関連物質は、皮膚に塗布されることにより角層中の遊離アミノ酸量を増大させて保湿効果を発揮し、それとともに皮膚のターンオーバーを誘導して皮膚の乾燥や老化を防止し、また荒れ肌を改善する作用を有することが知られており、かかる効果を目的として化粧品、医薬部外品または医薬品などの外用剤への応用が検討されている。これらのプリン系核酸関連物質には細胞増殖を促進する作用があることが知られており（Life Sciences, Vol.64, No.18, pp.1661-1674, 1999）、かかる細胞増殖促進作用が上記の各種作用に関わっているものと推測される。

## 【0003】

しかしながら、これらのプリン系核酸関連物質は、親水性が高いため、経皮吸収されにくいという欠点がある。

## 【0004】

## 【発明が解決しようとする課題】

このため、従来よりこれらのプリン系核酸関連物質を皮膚等に適用した場合に、当該プリン系核酸関連物質が有する細胞増殖促進作用をより効果的に発揮させるための方法が求められていた。

## 【0005】

本発明は、プリン系核酸関連物質が有する細胞増殖促進作用を効果的に発揮させるための方法を提供することを目的とするものである。具体的には、本発明はプリン系核酸関連物質の細胞増殖促進作用を増強し、当該作用が効果的に得られる組成物を提供することを目的とする。さらに本発明は、プリン系核酸関連物質が有する細胞増殖促進作用を増強する方法を提供することを目的とする。

## 【0006】

## 【課題を解決しようとする手段】

本発明者らは、プリン系核酸関連物質が有する細胞増殖促進作用を増強する方法の開発を目指して日夜研究を進めていたところ、当該プリン系核酸関連物質にピリミジン系核酸関連物質を併用することによって、上記目的が達成できることを見いだした。本発明はかかる知見に基づいて完成したものである。

## 【 0 0 0 7 】

すなわち本発明は、下記に掲げる細胞増殖用組成物である：

項 1．プリン系核酸関連物質とピリミジン系核酸関連物質を含有することを特徴とする細胞増殖用組成物。

項 2-1．プリン系核酸関連物質がアデニン系核酸関連物質よりなる群から選択される少なくとも 1 種であり、ピリミジン系核酸関連物質がウラシル系核酸関連物質よりなる群から選択される少なくとも 1 種である項 1 に記載の細胞増殖用組成物。

項 2-2．プリン系核酸関連物質が、アデニン、アデノシン、アデノシンのリン酸エステル、ヒポキサンチン、イノシン、イノシン酸、及びこれらの塩よりなる群から選択される少なくとも 1 種であり、ピリミジン系核酸関連物質がウラシル、ウリジン、ウリジンのリン酸エステル、デオキシウリジン、デオキシウリジンのリン酸エステル、及びこれらの塩よりなる群から選択される少なくとも 1 種である項 1 に記載の細胞増殖用組成物。

項 3．プリン系核酸関連物質がアデノシンーリン酸またはその塩であり、ピリミジン系核酸関連物質がウリジンーリン酸またはその塩である項 1、項 2-1 または項 2-2 のいずれかに記載の細胞増殖用組成物。

項 4．プリン系核酸関連物質を総量で少なくとも 0.01 重量%の割合で含有する項 1～3 のいずれかに記載の細胞増殖用組成物。

項 5．プリン系核酸関連物質を総量で 1～10 重量%の割合で含有する項 1～3 のいずれかに記載の細胞増殖用組成物。

項 6．組成物中のプリン系核酸関連物質 1 重量部に対してピリミジン系核酸関連物質を総量で 0.01～100 重量部の割合で含有する項 1～5 のいずれかに記載の細胞増殖用組成物。

項 7-1．皮膚または粘膜に使用される外用組成物である、項 1 乃至 6 のいずれかに記載の細胞増殖用組成物。

項 7-2．化粧品、外用医薬部外品、または外用医薬品である、項 1 乃至 7-1 のいずれかに記載の細胞増殖用組成物。

項 7-3．抗老化、保湿、抗アクネ、美白、抗たるみ、抗くすみ、抗シワ、育毛

、抗フケ、美爪、及び創傷治療よりなる群から選択されるいずれかの用途に使用されるものである、上記項1～7-2のいずれかに記載の細胞増殖用組成物。

【0008】

【発明の実施の形態】

(1) 細胞増殖用組成物

本発明の細胞増殖用組成物は、プリン系核酸関連物質に加えてピリミジン系核酸関連物質を含有することを特徴とするものである。

【0009】

ここでプリン系核酸関連物質としては、皮膚や粘膜に適用されて生理機能を発揮するものであって、化粧品や外用の医薬品又は医薬部外品中に配合できるものを広く挙げることができる。好ましくは水溶性若しくは親水性のものである。プリン系核酸関連物質としては、一般にアデニン、アデノシン、アデノシンのリン酸エステル〔例えばアデノシン2'-リン酸、アデノシン3'-リン酸、アデノシン5'-リン酸、アデノシン5'-二リン酸、アデノシン5'-三リン酸、アデノシン環状リン酸、アデニロコハク酸、ニコチンアミドアデニンモノジヌクレオチド(NMN)、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD)、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリリン酸(NADP)、フラビンアデニンジヌクレオチド(FAD)等〕、これらアデニン、アデノシンまたはアデノシンのリン酸エステルの代謝産物〔例えばヒポキサンチン、イノシン、イノシン酸等〕、及びこれらの塩などのアデニン系核酸関連物質；グアニン、グアノシン、グアノシンのリン酸エステル〔グアノシン3'-リン酸、グアノシン5'-リン酸、グアノシン5'-二リン酸、グアノシン5'-三リン酸等〕、これらグアニン、グアノシンまたはグアノシンのリン酸エステルの代謝産物〔例えば、キサンチル酸、キサンチン等〕、及びこれらの塩などのグアニン系核酸関連物質を挙げることができる。

【0010】

中でも本発明において用いられるプリン系核酸関連物質としては、上記に掲げるアデニン系核酸関連物質を好適に例示することができる。好ましくは、アデノシンのリン酸エステル、その代謝物およびこれらの塩であり、より好ましくはアデノシンのリン酸エステル及びその塩である。ここでアデノシンのリン酸エステ



ルとして、好適にはアデノシン1リン酸、特にアデノシン5'-リン酸(AMP)を挙げることができる。

#### 【0011】

なお、上記において塩としては、いずれもナトリウム塩やカリウム塩などのアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩およびバリウム塩等のアルカリ土類金属塩；アルギニンやリジン等の塩基性アミノ酸塩；アンモニウム塩やトリシクロヘキシルアンモニウム塩等のアンモニウム塩；モノエタノールアミン塩、ジエタノールアミン塩、トリエタノールアミン塩、モノイソプロパノールアミン塩、ジイソプロパノールアミン塩及びトリイソプロパノールアミンなどの各種のアルカノールアミン塩等を挙げることができる。好ましくはナトリウム塩などのアルカリ金属塩であり、かかるアルカリ金属塩として具体的にはアデノシンーリン酸一ナトリウム、及びアデノシンーリン酸二ナトリウムを例示することができる。

#### 【0012】

なお、これらのプリン系核酸関連物質は、本発明の細胞増殖用組成物中に1種単独で使用されてもよいし、また2種以上を任意に組み合わせて使用することもできる。

#### 【0013】

これらのプリン系核酸関連物質は、細胞増殖用組成物中に少なくとも0.01重量%の割合で配合することができる。好ましくは少なくとも1重量%、より好ましくは3重量%である。細胞増殖用組成物中に配合するプリン系核酸関連物質の割合の上限は本発明の効果の点からは特に制限されるものではない。細胞増殖用組成物の用途によっても異なるが、他成分の配合や使用感等といった他の要因を考慮し、通常0.01～10重量%の範囲から適宜選択して調整することができる。好ましくは1～10重量%、さらに好ましくは3～6重量%である。

#### 【0014】

本発明で用いられるピリミジン系核酸関連物質としては、プリン系核酸関連物質と同様に、化粧料や外用の医薬品又は医薬部外品中に配合できるものを広く挙げることができる。好ましくは水溶性若しくは親水性のものである。かかるピリ

ミジン系核酸関連物質としては、具体的にはウラシル、ウリジン、ウリジンのリン酸エステル〔ウリジンーリン酸（ウリジン 5'-リン酸、ウリジン 3'-リン酸、ウリジン 2'-リン酸）、ウリジン二リン酸、ウリジン三リン酸、ウリジン環状リン酸等〕、デオキシウリジン、デオキシウリジンのリン酸エステル〔5'-デオキシウリジン二リン酸（dUDP）、5'-デオキシウリジル酸（dUMP）等〕及びこれらの塩などのウラシル系核酸関連物質；シトシン、シチジン、シチジンのリン酸エステル（CMP）〔シチジンーリン酸（シチジン 5'-リン酸、シチジン 3'-リン酸、シチジン 2'-リン酸）、シチジン三リン酸（CTP）、シチジン二リン酸（CDP）〕、デオキシシチジン、デオキシシチジンのリン酸エステル（5'-デオキシシチジン三リン酸（dCTP）、5'-デオキシシチジン二リン酸（dCDP）、5'-デオキシシチジル酸（dCMP）等）及びこれらの塩などのシトシン系核酸関連物質；チミン、チミジン、チミジンのリン酸エステル〔チミジル酸（dTMP）、チミジン二リン酸（dTDP）、チミジン三リン酸（dTTP）等〕、オロト酸、5'-オロトチジル酸、及びこれらの塩などのチミン系核酸関連物質を例示することができる。

## 【0015】

なお、ここでピリミジン系核酸関連物質として、上記の各成分を含有するものであれば特にその純度や精製度を問うものではなく、例えばアブラナ科植物（特に種子）またはマメ科植物の抽出液等の上記成分を含有する植物抽出物を用いることもできる。

## 【0016】

本発明において用いられるピリミジン系核酸関連物質としては、上記に掲げるウラシル系核酸関連物質を好適に例示することができる。好ましくは、ウリジン、ウリジンのリン酸エステルまたはそれらの塩であり、より好ましくはウリジンのリン酸エステルまたはそれらの塩である。ここでウリジンのリン酸エステルとしては、好適にはウリジンーリン酸、特にウリジン 5'-リン酸（UMP）を挙げることができる。

## 【0017】

また上記において塩としては、いずれもナトリウム塩やカリウム塩などのアル

カリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩及びバリウム塩等のアルカリ土類金属塩；アルギニンやリジン等の塩基性アミノ酸塩；アンモニウム塩やトリシクロヘキシルアンモニウム塩等のアンモニウム塩；モノエタノールアミン塩、ジエタノールアミン塩、トリエタノールアミン塩、モノイソプロパノールアミン塩、ジイソプロパノールアミン塩及びトリイソプロパノールアミンなどの各種のアルカノールアミン塩等を挙げることができる。

#### 【0018】

好ましくはナトリウム塩などのアルカリ金属塩であり、かかるアルカリ金属塩として具体的にはウリジンーリン酸一ナトリウム、及びウリジンーリン酸二ナトリウムが例示される。

#### 【0019】

なお、これらのピリミジン系核酸関連物質は、本発明の細胞増殖用組成物中に1種単独で使用されてもよいし、また2種以上を任意に組み合わせて使用することもできる。

#### 【0020】

本発明の細胞増殖用組成物に配合されるピリミジン系核酸関連物質の割合は、上記効果を奏する範囲であれば特に制限されず、例えば組成物中に含まれるプリン系核酸関連物質1重量部に対してピリミジン系核酸関連物質が0.01～100重量部の割合となるような範囲から適宜選択することができる。好ましくは、0.01～10重量部、より好ましくは0.01～1重量部である。

#### 【0021】

細胞増殖用組成物100重量%中のピリミジン系核酸関連物質の配合割合としては、上記プリン系核酸関連物質との配合比を目安として、0.0001～50重量%の範囲から適宜選択調整することができる。好ましくは0.0001～10重量%、より好ましくは0.0001～1重量%の割合を例示することができる。

#### 【0022】

本発明の組成物は、前述するプリン系核酸関連物質とピリミジン系核酸関連物質を含有することにより、細胞、具体的には皮膚細胞、皮膚付属器（毛、脂腺、

爪等)細胞、または粘膜細胞などの細胞の増殖を促進する作用を有する。このため、本発明の組成物は細胞増殖用組成物または細胞増殖促進用組成物として化粧品、外用医薬品、または外用医薬部外品などの外用剤として広く用いることができる。より具体的には、例えば抗老化、保湿、抗アクネ、美白、抗シワ、抗たるみ、抗くすみ、育毛、抗フケ、美爪、創傷治療を目的とする化粧品、外用医薬品、または外用医薬部外品として用いることができる。

#### 【 0 0 2 3 】

好ましくは皮膚外用剤としての使用である。なお、かかる皮膚外用剤には、養毛剤や育毛剤、または養毛や育毛に効果のあるシャンプー、リンス、ヘアローション(トニック、リキッドを含む)などの各種のヘア化粧料が含まれる。本発明の組成物の形態は、皮膚や粘膜に適用可能なものであれば特に制限されず、水溶液系、可溶化系、乳化系、粉末分散系、及び水/油2層系などの任意の形態に調製することができる。具体的には、液剤、油剤、ローション、リニメント剤、乳液、懸濁液、クリーム、軟膏等を例示することができ、特にまた化粧料としては、ローション:エモリエント乳液、ミルキーローション、ナリシング乳液、クレンジング乳液等の乳液:エモリエントクリーム、マッサージクリーム、クレンジングクリーム、メイクアップクリーム等のクリーム等を、養毛剤や育毛剤等のヘア製品としてはトニック、ヘアクリーム、ヘアローション、エアゾール(噴霧剤)、ムース、シャンプー、リンス、リキッド等の形態を例示することができる。

#### 【 0 0 2 4 】

本発明の細胞増殖用組成物には、さらに本発明の効果を損なわない範囲内で、必要に応じて各種の界面活性剤、色素(染料、顔料)、香料、防腐剤、殺菌剤(抗菌剤)、増粘剤、酸化防止剤、金属封鎖剤、清涼化剤、防臭剤等の各種添加物の他、保湿剤、紫外線吸収剤、紫外線散乱剤、ビタミン類、植物エキス、皮膚収斂剤、抗炎症剤(消炎剤)、美白剤、細胞賦活剤、血管拡張剤、血行促進剤、及び皮膚機能亢進剤などの公知の各種成分、特に化粧料や外用の医薬品・医薬部外品など、皮膚や粘膜に適用される外用組成物に配合される公知の成分を配合することができる。また、前述する各種の形態に応じて、自体公知の基剤や担体を使

用することもできる。

#### 【0025】

上記成分として、例えば界面活性剤としては高級脂肪酸石けん、アルキル硫酸エステル塩、ポリオキシエチレンアルキルエーテル硫酸塩、アルキルエーテルリン酸エステル塩、N-アシルアミノ酸塩、アシルN-メチルタウリン塩等のアニオン界面活性剤；塩化アルキルトリメチルアンモニウム、塩化ジアルキルジメチルアンモニウムなどのカチオン界面活性剤；アルキルジメチルアミノ酢酸ベタイン、アルキルアミドジメチルアミノ酢酸ベタイン、2-アルキル-N-カルボキシ-N-ヒドロキシイミダゾリニウムベタインなどの両性界面活性剤；ポリオキシエチレン型、多価アルコールエステル型、エチレンオキシド・プロピレンオキシドブロック共重合体などの非イオン界面活性剤等を挙げることができる。また特に制限されることなく、高分子界面活性剤や天然界面活性剤に属する界面活性剤も使用することができる。

#### 【0026】

また防腐剤としてはパラオキシ安息香酸エチル、サリチル酸、及びソルビン酸等を；増粘剤としてはキサンタンガム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシビニルポリマー等を；金属封鎖剤としてはエチレンジアミン四酢酸のナトリウム塩、リン酸、クエン酸等をそれぞれ例示することができる。

#### 【0027】

本発明の細胞増殖用組成物は、化粧品、外用医薬品、または外用医薬部外品として、皮膚や粘膜に直接塗布または噴霧して使用することができる。その使用割合は、使用者（ヒト）の年齢、性別、用途、患部の症状の程度等に応じて1回／日から5，6回／日の回数で皮膚に経皮的に投与される。特に制限されないが、細胞増殖用組成物の一回投与量としては、通常 $0.5 \sim 10 \text{ mg/cm}^2$ の範囲から適宜調整して使用することができる。

#### 【0028】

#### （2）プリン系核酸関連物質の細胞増殖促進作用の増強方法

本発明は、またプリン系核酸関連物質が有する細胞増殖促進作用を増強する方法を提供する。当該方法は、プリン系核酸関連物質にピリミジン系核酸関連物質

を併用することによって実施することができる。

#### 【0029】

ここで用いられるプリン系核酸関連物質及びピリミジン系核酸関連物質の種類としてはいずれも前述のものを挙げるることができる。プリン系核酸関連物質として好ましくはアデニン系核酸関連物質である。アデニン系核酸関連物質の中でも特にアデノシンのリン酸エステル、その代謝物およびこれらの塩が、特にアデノシンのリン酸エステル及びその塩が好ましい。ここでアデノシンのリン酸エステルとして、具体的にはアデノシンーリン酸、特にアデノシン5'-リン酸(AMP)を挙げるることができる。またピリミジン系核酸関連物質として好ましくはウラシル系核酸関連物質である。ウラシル系核酸関連物質の中でも特にウリジン、ウリジンのリン酸エステルまたはそれらの塩が、特にウリジンのリン酸エステルまたはそれらの塩が好ましい。ここでウリジンのリン酸エステルとしては、具体的にはウリジンーリン酸、特にウリジン5'-リン酸(UMP)を挙げるることができる。

#### 【0030】

プリン系核酸関連物質に対して使用されるピリミジン系核酸関連物質の割合としては、プリン系核酸関連物質1重量部に対して0.01~100重量部、好ましくは0.01~10重量部、より好ましくは0.01~1重量部である。

#### 【0031】

本発明の方法は、プリン系核酸関連物質の細胞増殖促進作用に基づいて各種の効果(例えば抗老化、保湿、抗アクネ、美白、抗シワ、抗たるみ、抗くすみ、育毛、抗フケ、美爪、または創傷治療効果)を奏する組成物を調製するために利用することができる。すなわち、本発明によれば、プリン系核酸関連物質にピリミジン系核酸関連物質を併用することにより、プリン系核酸関連物質の細胞増殖促進作用が增強され、抗老化、保湿、抗アクネ、美白、抗シワ、抗たるみ、抗くすみ、育毛、抗フケ、美爪、または創傷治療効果に優れた組成物を調製することができる。

#### 【0032】

かかる組成物の調製には、通常0.01重量%以上、好ましくは1重量%以上

、より好ましくは3重量%以上の割合でプリン系核酸関連物質を含む組成物に対して、ピリミジン系核酸関連物質を前述する重量比となるように配合することが好ましい。なお上記組成物中のプリン系核酸関連物質の含有量は、少なくとも上記の割合（下限）であれば特に制限されないが、好ましくは0.01～10重量%、より好ましくは1～10重量%、さらに好ましくは3～6重量%の割合を示すことができる。また、かかる組成物100重量%へのピリミジン系核酸関連物質の配合割合としては、前述するプリン系核酸関連物質に対する配合比を考慮しながら、0.0001～50重量%の範囲から適宜選択調整することができる。好ましくは0.0001～10重量%、より好ましくは0.0001～1重量%の割合を挙げることができる。

### 【0033】

なお本発明には、下記に掲げる態様が包含される：

- (1)．プリン系核酸関連物質とピリミジン系核酸関連物質を併用することを特徴とするプリン系核酸関連物質の細胞増殖促進作用の増強方法。
- (2)．プリン系核酸関連物質がアデニン系核酸関連物質よりなる群から選択される少なくとも1種であり、ピリミジン系核酸関連物質がウラシル系核酸関連物質よりなる群から選択される少なくとも1種である(1)に記載の細胞増殖促進作用の増強方法。
- (3)．プリン系核酸関連物質が、アデニン、アデノシン、アデノシンのリン酸エステル、ヒポキサンチン、イノシン、イノシン酸、及びこれらの塩よりなる群から選択される少なくとも1種であり、ピリミジン系核酸関連物質がウラシル、ウリジン、ウリジンのリン酸エステル、デオキシウリジン、デオキシウリジンのリン酸エステル、及びこれらの塩よりなる群から選択される少なくとも1種である(1)または(2)に記載の細胞増殖促進作用の増強方法。
- (4)．プリン系核酸関連物質がアデノシンーリン酸またはその塩であり、ピリミジン系核酸関連物質がウリジンーリン酸またはその塩である(1)乃至(3)のいずれかに記載の細胞増殖促進作用の増強方法。
- (5)．プリン系核酸関連物質1重量部に対してピリミジン系核酸関連物質を総量で0.01～100重量部の割合で併用する(1)乃至(4)のいずれかに

記載の細胞増殖促進作用の増強方法。

(6) . プリン系核酸関連物質を含有する組成物にピリミジン系核酸関連物質を配合することを特徴とする(1)乃至(5)のいずれかに記載の細胞増殖促進作用の増強方法。

(7) . 組成物がプリン系核酸関連物質を総量で少なくとも0.01重量%の割合で含有するものである(6)記載の細胞増殖促進作用の増強方法。

(8) . 組成物がプリン系核酸関連物質を総量で1~10重量%の割合で含有するものである(6)または(7)に記載の細胞増殖促進作用の増強方法。

(9) . 組成物が皮膚または粘膜に適用される外用組成物である(6)乃至(8)のいずれかに記載の細胞増殖促進作用の増強方法。

(10) . 組成物が化粧品、外用医薬部外品または外用医薬品である(6)乃至(9)のいずれかに記載の細胞増殖促進作用の増強方法。

(11) . 組成物が抗老化、保湿、抗アクネ、美白、抗たるみ、抗くすみ、抗シワ、育毛、抗フケ、美爪、及び創傷治療よりなる群から選択されるいずれかの用途に使用されるものである(6)乃至(10)のいずれかに記載の細胞増殖促進作用の増強方法。

【0034】

#### 【実施例】

以下に実験例及び処方例を挙げて本発明を説明するが、本発明はこれらの例に何ら限定されるものではない。なお、以下の実験例及び処方例において、配合割合に関して「%」とは、特に断らない限り、重量%を意味するものである。

#### 実験例1 in vitroにおける培養ヒトケラチノサイト増殖促進効果

初代培養ヒトケラチノサイト(クラボウ製)を10cmシャーレに培養し、サブコンフルエント状態において回収し凍結保存した。この細胞を用いて下記の実験を行った。

【0035】

1. 凍結保存した細胞をHuMediaKG2液体培地(クラボウ社製)に溶解し、2500 cells/50  $\mu$ l/wellとなるように細胞濃度及び培地量を調整し、該細胞液を試験プレートのウェルに1 wellあたり50  $\mu$ lずつの割合で注入した。



## 【0036】

2. 一方、滅菌リン酸緩衝液を用いて各種濃度のアデノシンーリン酸二ナトリウム溶液、及びウリジンーリン酸二ナトリウム溶液を調整し、フィルターろ過して滅菌した。これに滅菌したHuMediaKG2液体培地（クラボウ社製）を添加して、各種希釈系列の被験試料含有培地を調製した。

## 【0037】

3. プレートウエルへの細胞注入から6時間後、ヒトケラチノサイトのウエル上への接着を確認し、各ウエルに上記で調製した各種希釈系列の被験試料含有培地（250  $\mu$ l）を添加して試験サンプル（合計300  $\mu$ l）を調製し、これを37℃、5%CO<sub>2</sub>の条件下で2日間培養した。なお、当該試験サンプルとして、上記300  $\mu$ l中に含まれるアデノシンーリン酸の濃度が0、0.0001、0.001、0.01、0.1、及び1 w/v%となるように調製したアデノシンーリン酸二ナトリウム溶液に、それぞれウリジンーリン酸二ナトリウムをウリジンーリン酸の濃度に換算して0、0.00001（1E-06）、0.00001（1E-05）、0.0001、0.001、0.01及び0.1 w/v%となるように配合して調製した希釈系列溶液を使用した。

## 【0038】

4. 培養から2日後、WST-1試薬（TaKaRa製）を用いて、吸光度の上昇に基づいてヒトケラチノサイトの増殖を測定した。具体的には、上記で培養した各ウエル中の試験サンプル（300  $\mu$ l）から200  $\mu$ lを除去して、残りの100  $\mu$ l中にWST-1試薬を10  $\mu$ lずつ添加して、攪拌した後、37℃、5%CO<sub>2</sub>のインキュベーター中で2時間反応させた。反応後、マルチスキャンアセントを用いて測定波長450nm、対照波長690nmにて吸光度を測定し、吸光度から細胞の増殖の有無並びにその程度を評価した。なお、ブランクとしてHuMediaKG2液体培地（クラボウ社製）100  $\mu$ lにWST-1試薬10  $\mu$ l添加したものを用了。

## 【0039】

結果を図1に示す。図1は各ウリジンーリン酸二ナトリウム（UMP・2Na）濃度を横軸とし、各濃度における細胞数（縦軸）を、該ウリジンーリン酸二ナトリウムと併用するアデノシンーリン酸二ナトリウムの濃度（正確にはアデノシンーリン酸（AMP）濃度）毎に示したものである。なお、図1には細胞数（縦

軸)として、それぞれアデノシンーリン酸二ナトリウムの配合系(0、0.0001、0.001、0.01、0.1、及び1 w/v%)において、ウリジンーリン酸二ナトリウムを配合しない試験サンプルにおいて得られた細胞数を1とした場合の相対比(ratio of cont.)として示す。

## 【0040】

図1から、プリン系核酸関連物質であるアデノシンーリン酸二ナトリウムにピリミジン系核酸関連物質であるウリジンーリン酸二ナトリウムを配合することによって、アデノシンーリン酸二ナトリウムの細胞増殖作用が増強し、促進されることが示された。

## 【0041】

処方例1 化粧水 (pH6.5)

アデノシンーリン酸二ナトリウム	3.0 (%)
ウリジンーリン酸二ナトリウム	0.1
ポリオキシエチレン(E.O.60)硬化ヒマシ油	0.7
エタノール	5.0
グリセリン	2.0
防腐剤	0.2
香料	適量
pH調整剤	適量
精製水	残余
合 計	100.0 %。

## 【0042】

処方例2 乳液 (pH6.5)

アデノシンーリン酸二ナトリウム	1.5 (%)
ウリジンーリン酸二ナトリウム	0.01
カルボキシビニルポリマー	0.3
モノミリスチン酸デカグリセリン	2.0
スクワラン	5.0
エタノール	1.0

グリセリン	6.0
防腐剤	0.2
pH調整剤	適量
精製水	残余
合 計	100.0 %。

## 【0043】

## 処方例3 養毛剤

アデノシンーリン酸二ナトリウム	10.0 (%)
ウリジンーリン酸二ナトリウム	1.0
サリチル酸	0.1
エタノール	20.0
グリセリン	2.0
防腐剤	0.2
香料	適量
精製水	残余
合 計	100.0 %。

## 【0044】

## 【発明の効果】

本発明の方法によれば、プリン系核酸関連物質が有する細胞増殖促進作用をピリミジン系核酸関連物質を併用することで増強することができ、できるだけ少量のプリン系核酸関連物質で優れた抗老化、保湿、抗アクネ、美白、抗シワ、抗たるみ、抗くすみ、育毛、抗フケ、美爪、または創傷治療効果効果を発揮しえる組成物を調製することができる。よってプリン系核酸関連物質とピリミジン系核酸関連物質を含有する本発明の組成物は、抗老化、保湿、抗アクネ、美白、抗シワ、抗たるみ、抗くすみ、育毛、抗フケ、美爪、または創傷治療効果に有効な化粧料、または皮膚外用剤（医薬品、医薬部外品）として有用である。

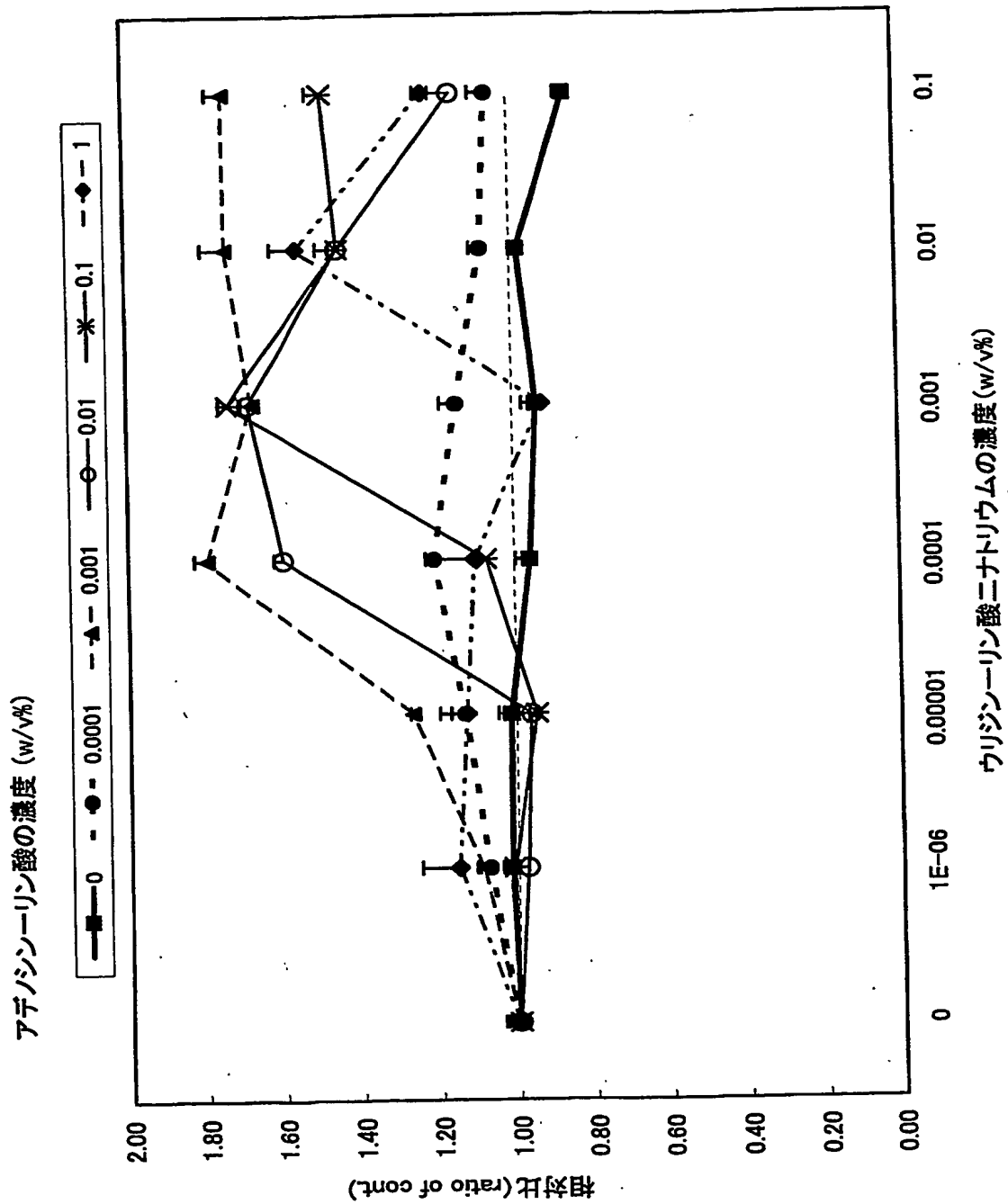
## 【図面の簡単な説明】

【図1】 実験例1の実験において、アデノシンーリン酸二ナトリウムのヒトケラチノサイトに対する細胞増殖促成作用が、ウリジンーリン酸二ナトリウムの併用

によって増強することを示す図である。横軸は、アデノシンーリン酸二ナトリウムと併用するウリジンーリン酸二ナトリウムの濃度 (w/v %) であり、縦軸は、それぞれのアデノシンーリン酸二ナトリウム配合系においてウリジンーリン酸二ナトリウムを添加しない試験サンプルで得られた細胞数を 1 とし、各試験サンプルで得られる細胞数をそれに対する相対比 (ratio of cont.) として示すものである。

【書類名】 図面

【図1】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 プリン系核酸関連物質の有する細胞増殖促進作用を増強する方法を提供する。またプリン系核酸関連物質が有する細胞増殖促進作用が増強されてなる細胞増殖促進用組成物を提供する。

【解決手段】 プリン系核酸関連物質、特にアデニン系核酸関連物質に、ピリミジン核酸関連物質、特にウラシル系核酸関連物質を併用する。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000206956]

1. 変更年月日	1990年 8月27日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都千代田区神田司町2丁目9番地
氏 名	大塚製薬株式会社